SRA01-04

305436

GENERAL INFORMATION

Description

Dòng tế bào SRA01/04 là một dòng tế bào biểu mô thủy tinh thể người bất tử hóa, được phát triển nhằm khắc phục những hạn chế liên quan đến việc nuôi cấy nguyên phát các tế bào biểu mô thủy tinh thể người (HLE). Những hạn chế này bao gồm khả năng sinh sôi thấp và khó khăn trong việc thu được lượng tế bào đủ từ thủy tinh thể của người hiến tặng. SRA01/04 được phân lập từ các tế bào HLE nguyên phát thu được từ trẻ sơ sinh phải phẫu thuật do bệnh võng mạc do sinh non. Quá trình bất tử hóa được thực hiện bằng cách chuyển gen vào tế bào thông qua plasmid mang gen kháng nguyên T lớn của SV40 dưới sự điều khiển của promoter RSV. Phương pháp này tránh việc sử dụng virus sống và cho phép chọn lọc được một dòng tế bào đồng nhất với các đặc tính nhất quán.
Các tế bào SRA01/04 thể hiện khả năng tăng sinh ổn định qua 130 chu kỳ nhân giống với mức nhân đôi quần thể khoảng 3,5 lần mỗi chu kỳ. Về mặt hình thái, chúng duy trì một lớp đơn có đặc điểm biểu mô. Phân tích nhiễm sắc thể cho thấy kiểu nhiễm sắc thể hypotetraploid, phù hợp với trạng thái bất tử hóa. Kết quả phân tích kiểu hình isozyme đã xác nhận nguồn gốc từ người của dòng tế bào này. Điều quan trọng là, dòng tế bào này vẫn giữ được các đặc điểm phân tử đặc trưng của thủy tinh thể, bao gồm sự biểu hiện của các protein αA- và βB-crystallin cũng như aldose reductase, mặc dù ở mức độ protein thấp hơn so với các nuôi cấy HLE nguyên phát. mRNA của cả hai loại protein tinh thể này cũng được phát hiện thông qua RT-PCR, và việc giải trình tự đã xác nhận độ trùng khớp 100% với các trình tự của người đã được công bố. Điều này khiến SRA01/04 trở thành dòng tế bào thủy tinh thể người đầu tiên được xác lập và được chứng minh là biểu hiện cả hai loại protein tinh thể αA và βB.
Ngoài việc biểu hiện các protein crystallin, SRA01/04 còn biểu hiện aldose reductase, một enzym tham gia vào con đường polyol, có liên quan đến quá trình hình thành đục thủy tinh thể. Mặc dù cần 20% huyết thanh bò thai để đạt được sự phát triển tối ưu, các tế bào vẫn có thể tồn tại và sinh sôi với nồng độ huyết thanh thấp hơn hoặc thậm chí trong điều kiện không có huyết thanh nếu được gắn sẵn vào đĩa nuôi cấy. Khả năng thích ứng này, cùng với kiểu hình đặc trưng ổn định của thủy tinh thể, khiến SRA01/04 trở thành một mô hình quý giá để nghiên cứu sinh lý học thủy tinh thể, điều hòa gen trong biểu mô thủy tinh thể và các cơ chế cơ bản dẫn đến sự hình thành đục thủy tinh thể.

Tissue	Mắt, thủy tinh thể, biểu mô

Synonyms

- SRA 01-04
- HLEC-SRA 01-04
- HLE-SRA-01-04
- SRA01-04 (HLE)
- SRA 01/04
- HLEC-SRA 01/04
- HLE-SRA-01/04
- SRA01/04 (HLE)

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Male
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

GMO-S1: This SRA01-04 human lens epithelial line contains an SV40 large T-antigen construct enabling ocular lens research. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Biosafety level	1

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

CHARACTERISTICS

Morphology	Tương tự biểu mô
Cell type	Thấu kính mắt

IDENTIFIERS

Citation

SRA01-04 (Mã sản phẩm Cytion 305436)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_7157

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

Tích hợp gen: Phương pháp = Truyền gen; Gen = UniProtKB; P03070; Kháng nguyên T lớn của SV40

Isoenzymes

LD, NP

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

DMEM nồng độ glucose thấp

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO_2, môi trường ẩm.

Supplements

Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy

Dissociation reagent	Accutase
Seeding density	2–4 × 10^4/cm²
Fluid renewal	2 lần mỗi tuần

Thawing and culturing

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.
Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.

Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để cải thiện quá trình phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Storage conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng −150 đến −196 °C. Việc bảo quản ở −80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Shipping conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

DONOR

Donor age	3 tháng

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Khi lập kế hoạch lưu trữ ống cryovial trong nitơ lỏng để rã đông sau này, việc tuân thủ các biện pháp an toàn nghiêm ngặt là bắt buộc. Găng tay và quần áo bảo hộ phù hợp là điều cần thiết, và việc sử dụng khẩu trang hoặc kính bảo hộ là bắt buộc trong quá trình chuyển mẫu đông lạnh vào hoặc ra khỏi bể nitơ lỏng. Điều này nhằm giảm thiểu nguy cơ chấn thương do nổ ống cryovial khi lấy ra, có thể dẫn đến việc văng ra các mảnh vỡ sắc nhọn.

Warranty

Tại Cytion, chúng tôi cam kết về chất lượng và khả năng sống của các sản phẩm của mình.
Chúng tôi đảm bảo rằng các tế bào của chúng tôi sẽ có khả năng sống tại thời điểm bắt đầu nuôi cấy trong
60 ngày kể từ khi vận chuyển từ cơ sở của chúng tôi.
Chúng tôi cam kết rằng tất cả các vật liệu tuân thủ các thông số kỹ thuật được mô tả trong
Giấy chứng nhận phân tích và/hoặc Tài liệu sản phẩm.
Để biết chi tiết đầy đủ, vui lòng tham khảo
<a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Tuyên bố Bảo hành.

Material Transfer Agreement required	Yes

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB